Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg

Direktor : Prof. Dr. med. H.-A. Kühn

TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE DIGITOXINWIRKUNG BEI CHRONISCHER NIERENINSUFFIZIENZ

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und dem Fachbereich Medizin der

Julius - Maximilians - Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt

von

Herbert Schindler

aus Wartenfels

Würzburg , den 28.6.1979

1980

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg

Direktor : Prof. Dr. med. H.-A. Kühn

TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE DIGITOXINWIRKUNG BEI CHRONISCHER NIERENINSUFFIZIENZ

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und dem Fachbereich Medizin der

Julius - Maximilians - Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt

von

Herbert Schindler

aus Wartenfels

Würzburg , den 28.6.1979

Referent : Priv.Doz.Dr.med. H.Hennemann

Korreferent : Prof.Dr.med. H.-A.Kühn

Dekan : Prof.Dr.med. K.-H.Wulf

Tag der mündlichen Prüfung : 26.Februar 1980

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Medizin

der Universität Würzburg

I N H A L T S V E Z E I C H N I S

		Seite
EINLEITUNG		4
METHODIK		6
1.	Vorbereitungen	6
1.1.	Die subtotale Nephrektomie	6
1.2.	Das Kollektiv der Normaltiere	7
1.3.	Herstellung des Szintillationsmediums für die ^{45}Calcium - Aktivitätsbestimmung	7
2.	Durchführung des Experiments	8
2.1.	^{45}Calcium - Aktivitätsbestimmung im Myokard und im Plasma	8
2.1.1.	Tiere mit chronischer Niereninsuffizienz	8
2.1.2.	Kontrollen	8
2.1.3.	Entnahme und Aufbereitung der Organ- und Plasmaproben	9
2.1.4.	Quenchkurve	1o
2.1.5.	Leerwert	11
2.1.6.	Messung der ^{45}Calcium - Aktivitäten im Szintillationszähler	11
2.2.	Bestimmung der Digitoxin - Letaldosis	12
3.	Statistische Methoden	13

ERGEBNISSE UND DISKUSSION 16

1. Allgemeines 16
2. Digitoxin - Letaldosis 16
3. ^{45}Calcium - Myokardaktivität 18

ZUSAMMENFASSUNG 21

ABBILDUNGEN 22

TABELLEN 26

LITERATURVERZEICHNIS 32

EINLEITUNG

Das chronische Nierenversagen kann heute durch geeignete Diätetik, Dialyse- und Transplantationsbehandlung erfolgreich angegangen werden. Seit der Patient nicht mehr an den Folgen des chronischen Nierenversagens stirbt, gewinnen Fragen der Lebensqualität dieses Überlebens zunehmend an Interesse. Eine auffällige Diskrepanz besteht bei diesen Patienten zwischen ihren subjektiven Angaben - sie fühlen sich nämlich wohl - und den objektiven klinischen und pathologisch-anatomischen Korrelaten ihres Gesundheitszustandes : bei genauerer Untersuchung können Störungen im Bereich jedes beliebigen Organsystems nachgewiesen werden (11,35,47). Ein großer Teil der Patienten weist Zeichen einer Herzinsuffizienz auf. Man ist heute dazu übergegangen, die Existenz einer eigenständigen Kardiomyopathie bei Niereninsuffizienz zu bejahen. Etwa die Hälfte aller Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz ist auf eine Dauertherapie mit Herzglykosiden angewiesen.

Im Lauf der Zeit hat sich herausgestellt, daß die Glykosidtherapie bei Niereninsuffizienz eine Reihe von Problemen mit sich bringt. In erster Linie besteht immer die Gefahr der Kumulation (13,19,32,48). Dies gilt besonders für die Gruppe der Digoxinpräparate (6,27), die physiologischerweise renal eliminiert werden (14,28). In letzter Zeit haben sich aber mehr und mehr Indizien dafür ergeben, daß auch Digitoxin, welches weitgehend hepatisch eliminiert wird (27), beim Patienten mit Niereninsuffizienz trotz therapeutischer Serumspiegel zu Intoxikationserscheinungen führen kann. Vaitl (52) konnte bei einer Reihe von

Patienten mit chronischem Nierenversagen elektrokardiographische Überdigitalisierungszeichen bei normalen Digitoxinspiegeln im Serum aufzeigen. Aus einer Anzahl von katamnestischen klinischen Studien geht hervor, daß die Digitalisintoxikation unter den iatrogenen Todesursachen an erster Stelle steht (19,41) .

In der vorliegenden Arbeit wird versucht, anhand von tierexperimentellen Modellen näheren Einblick in die Pathomechanismen der gesteigerten Glykosidtoxizität bei Niereninsuffizienz zu erhalten. Die Untersuchungen wurden an subtotal nephrektomierten Ratten durchgeführt.

METHODIK

1. Vorbereitungen

1.1. Die subtotale Nephrektomie

Für das Experiment ist ein Kollektiv von Versuchstieren mit einer chronischen Niereninsuffizienz anzulegen. Hierfür eignet sich das tierexperimentelle Modell der 5/6 - Nephrektomie (9,1o,36) .

Als Versuchstiere dienen weibliche Wistar - Ratten, Körpergewicht ca. 14o - 22o g, welche unter künstlichem Tag/Nacht - Rhythmus bei einer Raumtemperatur von 24 ^{o} C leben. Sie erhalten Altromin ^{R} - Standardkost und Leitungswasser.

Die Operation wird in flacher Äthernarkose vorgenommen. Nachdem die Behaarung am Rücken der Ratte im lumbalen Bereich entfernt ist, geht man von einem Medianschnitt aus zunächst auf die linke Niere ein. Sie wird unter Schonung der Nebenniere vorsichtig dekapsuliert und distal von einer Ligatur des Gefäßstiels exstirpiert. An der rechten Niere reseziert man nach Dekapsulation beide Pole. Ungefähr ein Drittel des Organs bleibt erhalten. Die entstandenen Operationswunden werden mit Einzelknopfnähten verschlossen.

Wegen der überschießenden Regeneration der teilresezierten Niere (46),

ist 14 Tage nach der Operation ein zweiter Eingriff erforderlich, die Nachresektion. Mit dem Thermokauter (Erbotom K 25) koaguliert man die kompensatorisch hypertrophierte Restnierenoberfläche. Erst jetzt ist gewährleistet, daß die Ratten in einen chronisch-urämischen Zustand kommen. Dieser ist ungefähr zwei Wochen nach erfolgter Nachresektion erreicht. Die Serumharnstoff-N - Werte liegen dann zwischen ca. 4o und 12o mg % .

1.2. Das Kollektiv der Normaltiere

Die in dem Experiment als Kontrollen benötigten Normaltiere sind als Kollektiv von Ratten des gleichen Stammes, Geschlechtes und Alters anzulegen. Auch die Ernährungs- und Lebensweise hat derjenigen der oben genannten 5/6-nephrektomierten Versuchstiere zu entsprechen.

1.3. Herstellung des Szintillationsmediums für die ^{45}Calcium - Aktivitätsbestimmung

Ein geeignetes Szintillationsmedium kann wie folgt bereitet werden : in 2 l Toluol werden 24 g PPO und o,6 g POPOP (Fa.Packard) aufgelöst. Nach 24 Std kommen 1 l Isopropanol , 1 l Triton - X (Fa.Packard) und o,5 l HCl hinzu. Dann füllt man mit Isopropanol auf 5 l auf. Das fertiggestellte Medium soll in lichtgeschützten Flaschen aufbewahrt werden.

2. Durchführung des Experiments

2.1. ^{45}Calcium - Aktivitätsbestimmung im Myokard und im Plasma

2.1.1. Tiere mit chronischer Niereninsuffizienz

Wie oben berichtet, können relevante Harnstoff-N - Konzentrationen zwei Wochen nach der Nachresektion bei den 5/6 - nephrektomierten Ratten erwartet werden. Am Versuchstag ist der Serumharnstoff-N zu kontrollieren. Hierzu punktiert man mit einem kapillären Glasröhrchen den retroorbitalen Venenplexus, wie dies von Nöller (4o) beschrieben wurde. Weil bei jeder Ratte im Laufe des Experiments nur zwei Blutentnahmen erforderlich sind, können die von Gerecke (18) gezeigten Nachteile dieser Methode außer Acht gelassen werden. Man bringt ca. 2 ml Blut in ein heparinisiertes Reagenzglas und zentrifugiert bei 35oo U/min. Der Harnstoff-N wird nach Marsh et al. (34) im Technicon - Autoanalyser bestimmt.

Die Versuchstiere betäubt man mit Äther und injiziert 1o µ Ci ^{45}Calcium pro kg Körpergewicht intraperitoneal. Gleichzeitig erhält ein Teil von ihnen 1oo µg Digitoxin (Digimerck ^{R}) intravenös.

2.1.2. Kontrollen

Die Normaltiere werden genau wie die Tiere mit chronischer Urämie behandelt : alle bekommen 1o µ Ci Radiocalcium / kg Körpergewicht i.p. und ein Teil erhält zusätzlich 1oo µg Digitoxin in die Schwanzvene.

2.1.3. Entnahme und Aufbereitung der Organ- und Plasmaproben

6 Stunden nach erfolgter Injektion entnimmt man den mit Äther narkotisierten Tieren zur Bestimmung der Plasmaaktivität von ^{45}Ca ca. 3 ml Blut aus dem Retroorbitalplexus und zentrifugiert.

Nun wird die Ratte durch Decapitierung getötet. Man eröffnet den Thorax und trennt das Herz von den großen Gefäßen ab. Aus dem linken Ventrikel schneidet man ein ungefähr 100 mg schweres Gewebsstückchen heraus. Dies wird mit einer Meßgenauigkeit von 0,1 mg abgewogen und in einen mit 1 ml Soluene ^{R} gefüllten Szintillationsbehälter gebracht. Soluene ^{R} ist ein quarternäres Ammoniumhydroxid. Es kann Gewebsproben zur Auflösung bringen. Um diesen Solutionsvorgang zu beschleunigen, stellt man die Behälter in einen Schüttelapparat . Dort sind die Organproben schon nach 3 Std gelöst.

Während die Gewebsproben sich in dem Schüttelapparat befinden, werden jeweils 200 µl von den zentrifugierten Blutproben aus dem überstehenden Plasma entnommen. Sie kommen in ebenfalls mit 1 ml Soluene ^{R} gefüllte Szintillationsbehälter. Hier können sofort 15 ml Szintillationsmedium zupippetiert werden.

Nachdem die Organproben sich gelöst haben, erhalten auch sie jeweils 15 ml von der Szintillationsflüssigkeit.

2.1.4. Quenchkurve

Das mit Soluene ^{R} hydrolysierte Myokardgewebe bewirkt im Zählglas eine gelb-bräunliche Trübung. Hierdurch wird die Ausbeute an cpm (counts per minute) der in der Probe vorhandenen ^{45}Calcium - Aktivität verringert. Man nennt diesen Vorgang quenching. Der Szintillationszähler (Tri Carb, Fa.Packard) ermittelt als Maß für die Quenchrate die A.E.S.-Ratio.

Um bei gefärbten Proben auch den Anteil an cpm bestimmen zu können, der durch quenching verlorengeht, muß eine Quenchkurve angelegt werden : man verteilt Myokardgewebsstückchen mit dem Gewicht von 1o, 2o, 5o, 1oo, 15o, 2oo, 25o mg von gesunden, unvorbehandelten Ratten auf Szintillationsbehälter. Dort werden sie mit Hilfe von je 1 ml Soluene ^{R} pro Zählglas im Schüttelapparat gelöst. Danach gibt man eine definierte Aktivität von o,o1 µ Ci ^{45}Calcium sowie 15 ml Szintillationsmedium dazu. Als ungequenchter Standard dient 1 ml Soluene ^{R} , o,o1 µ Ci Radiocalcium und 15 ml Szintillationsmedium, ohne zugesetztes Organgewebe.

Die Quenchkurve entsteht als graphische Darstellung, in der die Ausbeute in % auf der Ordinate gegen die vom Zählgerät festgestellte A.E.S.-Ratio auf der Abszisse aufgetragen ist (siehe Abb. 1) . Die prozentuale Ausbeute kann man aus dem Verhältnis der Aktivität bei verschiedenen, durch die unterschiedlichen Gewebemengen erzeugten Trübungsgraden, zur Vollaktivität von o,o1 µ Ci = 22 2oo cpm berechnen. Hierbei muß auf die Halbwertszeit von ^{45}Calcium, welche 165 Tage beträgt und auf den in 2.1.5. beschriebenen Leerwert geachtet werden. In Documenta

Geigy (12) findet man eine Tabelle zur Bestimmung des Aktivitätsverlustes durch den natürlichen Zerfall.

2.1.5. Leerwert

Um den Anteil an cpm zu messen, der durch die natürliche Umgebungsstrahlung und durch spontane Elektronenaustritte aus der Photokathode des Szintillationszählers erzeugt wird (Nulleffekt), legt man noch eine Leerwert-Probe an: hierfür kommen 1 ml Soluene® und 15 ml von dem Szintillationsmedium in einen Zählbehälter. Die im Leerwert gefundene Aktivität wird von der Gesamtaktivität jeder gemessenen Probe abgezogen. Es resultiert die gesuchte Nettoimpulsrate.

2.1.6. Messung der ^{45}Calcium - Aktivitäten im Szintillationszähler

Bevor nun alle Proben in den Zähler gelangen, werden sie über Nacht kühl und dunkel aufbewahrt. So kann die Eigenlumineszenz abklingen.

Die Auszählung erfolgt am nächsten Tag im ^{14}C - Kanal des Zählgerätes, weil die Strahlungseigenschaften dieses Kohlenstoffisotops denjenigen von ^{45}Ca sehr ähneln. Hier wird die größte Zählausbeute erzielt.

2.2. Bestimmung der Digitoxin - Letaldosis

Die zu untersuchenden Ratten stammen zu einem Teil aus dem Kollektiv der Tiere mit chronischer Niereninsuffizienz, zum anderen Teil aus dem Normaltierkollektiv (Kontrollen) .

Am Versuchstag wird allen Tieren zunächst Blut entnommen und die Serum-Harnstoff-N - Konzentration festgestellt. Darauf punktiert man den narkotisierten Ratten die Schwanzvene. Jedes Tier erhält nun eine Infusion des Herzglykosids Digitoxin (Digimerck ^{R}) . Die Infusionsgeschwindigkeit beträgt o,25 mg / min . Nach einem präterminalen tetanischen Stadium tritt der Tod ein. Als Kriterium des Zeitpunktes, zu dem das Versuchstier ad exitum kommt, gilt die Asystolie, die man durch Ableitung eines Extremitäten - Elektrokardiogramms erkennt.

Aus dem verbrauchten Volumen Digimerck ^{R} und dem Gewicht der Ratte kann die jeweilige Letaldosis / kg Körpergewicht berechnet werden .

Zur methodischen Kontrolle wird einigen Tieren Ringerlösung unter analogen Bedingungen infundiert. Hier wirkt ein Volumen von mehr als 1o ml nicht letal.

3. Statistische Methoden

Arithmetischer Mittelwert ($\bar{x}$)

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

x = Einzelbestimmung , n = Anzahl der Einzelbestimmungen

Standardabweichung (σ)

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Mittlerer Fehler des Mittelwerts (ε)

$$\varepsilon = \sqrt{\frac{\sigma^2}{n}}$$

Fehler der Differenz zweier voneinander unabhängiger Mittelwerte (S_D)

$$S_D = \sqrt{\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \frac{\sigma_2^2}{n_2}}$$

t - Test zur Prüfung der Signifikanz der Unterschiede zweier voneinander unabhängiger Mittelwerte

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S_D}$$

Signifikanz p

Als signifikant verschieden betrachtet man Werte, deren

$p \leq 0{,}05$ beträgt

Berechnung von Regressionsgeraden

$$y = R\,x + A$$

$$R = \frac{n\sum x_1 x_2 - \sum x_1 \sum x_2}{n\sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$A = \frac{\sum x_2 - R\sum x_1}{n}$$

Renner (42) bietet eine ausführliche Darstellung dieser statistischen Methoden.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

1. Allgemeines

Das extrazelluläre Calcium kann als Digitalis - Agonist angesehen werden, das extrazelluläre Kalium als Digitalis - Antagonist (4,38,5o). Der Patient mit chronischer Niereninsuffizienz hat in der Regel eine Hypocalcämie (44,45) und eine Hyperkaliämie (43) , das heißt, vom theoretischen Aspekt her würde er höhere Digitalisdosen benötigen, um suffizient digitalisiert zu sein.

Die klinische Empirie beweist gerade das Gegenteil : auch bei therapeutischen Digitoxin - Plasmaspiegeln werden gehäuft Zeichen einer Überdigitalisierung beobachtet (52) .

Die Ratte gilt in bezug auf Digitaliswirksamkeit als ungünstiges Versuchstier. Voraussetzung für die Übertragung der Befunde vom Menschen auf die Ratte und für weitere Analogieschlüsse zurück von der Ratte auf den Menschen war demnächst die Klärung der Frage, ob sich die Glykosidintoleranz auch bei der urämischen Ratte bestätigen läßt.

2. Digitoxin - Letaldosis

Es wurden unter den Bedingungen der Digitoxin - Dauerinfusion die Letaldosen für das Herzglykosid bei gesunden und urämischen Ratten

festgestellt. Die Digitoxin - Infusionsgeschwindigkeit lag bei o,25 mg pro min (1 ml Digimerck ^{R} / min) . Gemessen wurde die kumulative Digitoxindosis bis zum Zeitpunkt der Asystolie. Abbildung 2 und 3 zeigen die Ergebnisse. Während bei der chronisch-urämischen Ratte 6,6 mg/kg Digitoxin genügen, um eine Asystolie auszulösen (siehe Tab.1) , braucht die gesunde Ratte 1o,7 mg/kg , also nahezu das Doppelte (siehe Tab.2). Der Unterschied ist statistisch signifikant ($p < o,oo1$). Die Digitoxin - Letaldosis läßt sich zum Ausmaß der Azotämie, gemessen am Harnstoff-N im Serum, korrelieren ($p < o,o5$; vgl. Abb.3) .

Diese Befunde decken sich voll mit denen von Vaitl (52) , welche am Menschen erhoben wurden. Trotzdem bereitet die Interpretation Schwierigkeiten. Die bestehende Hypocalcämie und die bestehende Hyperkaliämie müßten die Tiere theoretisch vor den Folgen der Digitalisintoxikation schützen. Es bleibt daher nichts anderes übrig, als sich dem Postulat der Existenz einer eigenständigen urämischen Kardiomyopathie anzuschließen, wie sie bereits von mehreren Autoren diskutiert wurde (1,3,5,2o,51) .

Das Gesamtkörpercalcium soll nach Befunden von Hosking und Chamberlain (21) bei chronischer Niereninsuffizienz unverändert sein, die differierenden Befunde im Plasma, im Gewebe und im Knochen erklären sich demnach aus einer Verteilungsstörung. Im Myokard chronisch-urämischer Ratten ist die Calciumkonzentration signifikant erhöht (52), auch wenn die gelegentlich beobachteten kardialen Calcifikationen (2o,51,53) nicht mit berücksichtigt werden. Festzustellen bleibt also die Tatsache, daß die alleinige Messung der stationären Parameter, wie Gesamtkörpercalcium,

intrazelluläres Calcium und Serumcalcium die gesteigerte Toxizität von Herzglykosiden nicht befriedigend zu erklären vermag.

3. ^{45}Calcium - Myokardaktivität

Als weiterer Schritt zur Klärung der erhöhten Glykosidtoxizität ist die Berücksichtigung der dynamischen Parameter, also der Radiocalcium - Kinetik, gemessen nach Fleckenstein und Mitarb. (15,16,17) notwendig.

Untersucht wurden unter diesen Bedingungen vier verschiedene Gruppen von Versuchstieren, jeweils nach intraperitonealer Injektion von 1o µ Ci ^{45}Calcium / kg Körpergewicht:

a) gesunde Kontrolltiere
b) Tiere mit subtotaler Nephrektomie
c) gesunde Kontrolltiere nach intravenöser Injektion von 1oo µg Digitoxin
d) subtotal nephrektomierte Tiere nach intravenöser Injektion von 1oo µg Digitoxin .

Eine verringerte Radiocalcium - Akkumulation im Gewebe würde dabei auf ein Leck der sarkoplasmatischen Calciumpumpe bei Urämie hinweisen, wie dies z.B. von Bundschu et al. (7) am quergestreiften Muskel der urämischen Ratte gezeigt wurde.

Die Radiocalcium - Aufnahme ist jedoch, wie die Ergebnisse zeigen, un-

verändert, egal ob Tiere mit oder ohne chronische Niereninsuffizienz, mit oder ohne Digitalis zum Versuch gelangen (Abb.4, Tab. 3 - 6). Die Aufnahme von ^{45}Calcium 6 Std nach i.p. Injektion von 1o µ Ci / kg lag im Herzmuskelgewebe gesunder Tiere bei 35,6 % der Plasmaaktivität, im Herzmuskelgewebe urämischer Tiere bei 36,4 % der Plasmaaktivität, im Herzmuskelgewebe gesunder digitalisierter Tiere bei 35,5 % der Plasmaaktivität und im Herzmuskelgewebe urämischer digitalisierter Tiere bei 37,3 % der Plasmaaktivität. Die Unterschiede sind statistisch nicht signifikant.

Grundsätzlich könnte die positive Inotropie von Digitalis durch eine Erhöhung des Ruheinflux von Calcium, durch eine Erhöhung des Influx von Calcium während der Excitation, einen verringerten Calcium - Efflux, die Mobilisierung von Calcium aus intracellulären Speichern einschließlich der Mitochondrien (49) , oder eine Verminderung der Kapazität des sarkoplasmatischen Reticulums, Calcium zu binden (23) , zustande kommen. Daraus würde jeweils eine Erhöhung des verfügbaren ionisierten Calciums (25,29) , das für die Myofibrillen zur Teilnahme an der Kontraktion erhältlich ist, resultieren. Wahrscheinlich sind mehrere der genannten Mechanismen zur Erklärung der positiv inotropen Glykosidwirkung heranzuziehen (37) .

Im Zustand der terminalen Niereninsuffizienz ist zwar ein erhöhtes Gesamtcalcium des Myokardgewebes beschrieben worden (52) , dies bezieht sich aber nach den vorliegenden Untersuchungen nicht auf den Anteil des sarkoplasmatisch fixierten Calciums.

Digitalis vermag also unter Ruhebedingungen den Radiocalcium - Einstrom ins sarcoplasmatische Reticulum der urämischen Ratte nicht zu erhöhen. Ähnliche Befunde sind auch bereits unter Isoproterenol - Stimulation publiziert worden (2) . Mit anderen Worten : Herzglykoside sind im Stadium der terminalen Niereninsuffizienz aus diesen Gründen weniger effektiv, warum sie eine gesteigerte Toxizität zeigen ist aus den hier vorliegenden Untersuchungen nicht definitiv zu beantworten.

ZUSAMMENFASSUNG

Die erhobenen Befunde bestätigen eine erhöhte Glykosidtoxizität am Modell der subtotal nephrektomierten Ratte.

Die ^{45}Calcium - Aufnahme des Myokardgewebes, gemessen nach Fleckenstein et al. ist in diesem experimentellen Modell mit und ohne Glykosidvorbehandlung nicht unterschiedlich.

Die Befunde erklären zwar die Unwirksamkeit von Herzglykosiden bei chronischer Niereninsuffizienz, nicht jedoch die gesteigerte Toxizität, wie sie in der Klinik und im Tierexperiment beobachtet wurde.

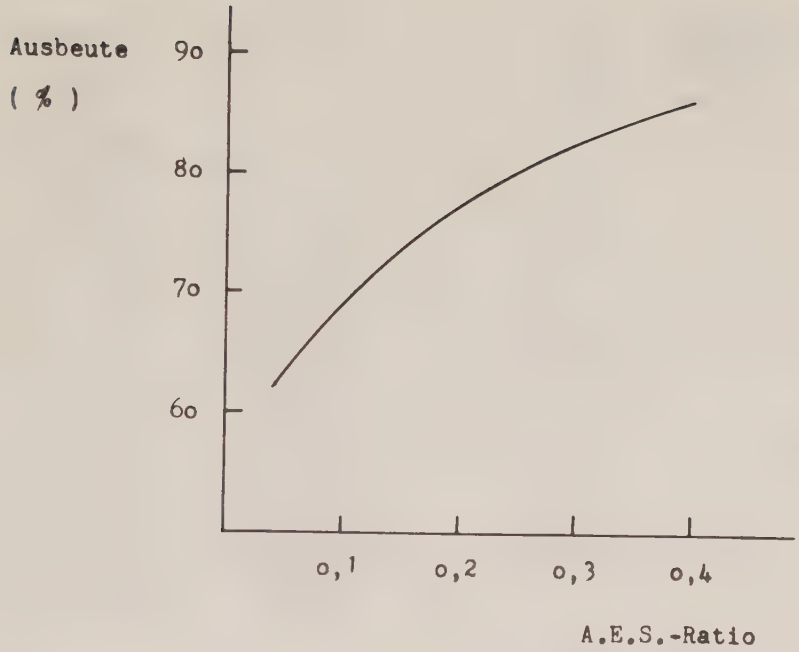

Abbildung 1

Quenchkurve . Mit ihrer Hilfe kann die Strahlungsaktivität ermittelt werden, welche bei gefärbten Proben in Wirklichkeit vorliegt .

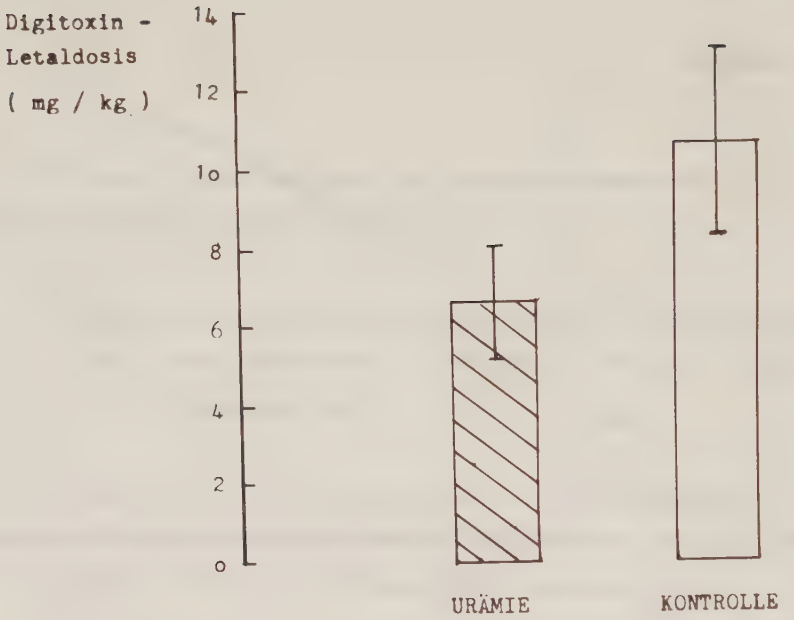

Abbildung 2

Kumulative Digitoxindosis bis zum Eintreten des Herzstillstandes bei der Ratte. Sie liegt bei chronisch-urämischen Tieren signifikant niedriger als bei den Kontrolltieren ($p < 0{,}001$).

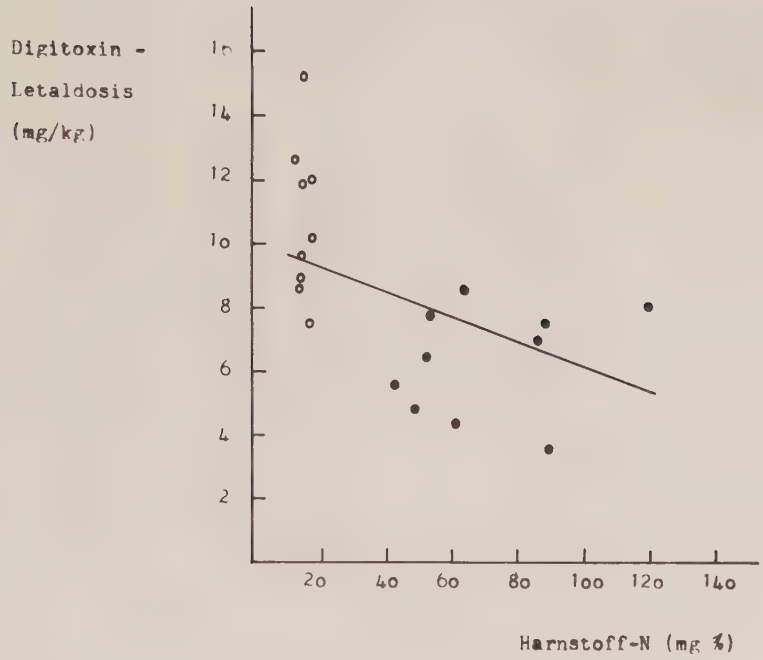

Abbildung 3

Digitoxin - Letaldosis in Abhängigkeit von der Serumharnstoff-N Konzentration. Geschlossene Kreise = Tiere mit chronischer Urämie , offene Kreise = Tiere mit normalen Harnstoffwerten (Kontrollen). Die Abbildung zeigt die Regressionsgerade. Es liegt eine negative Korrelation vor (Korrelationskoeffizient $r = -0{,}53$) .

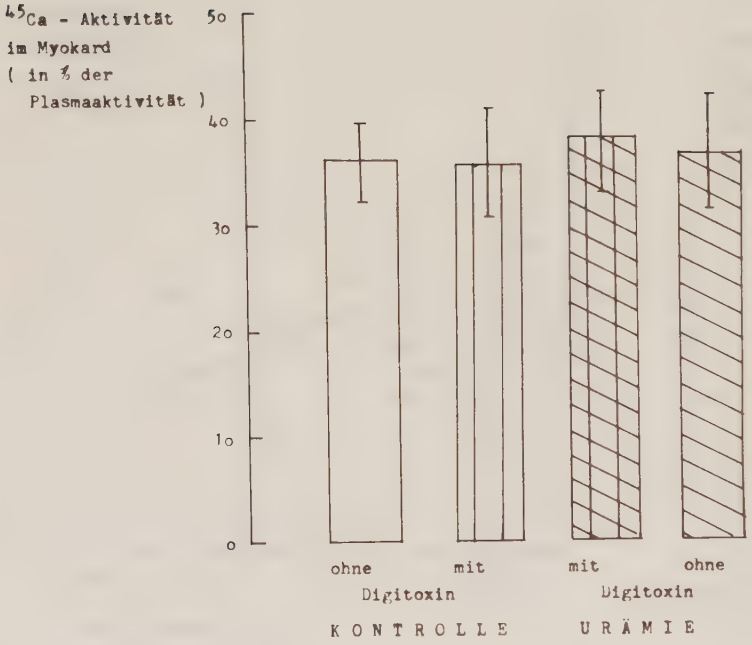

Abbildung 4

^{45}Ca - Aufnahme des Rattenmyokards bezogen auf die Plasmaaktivität bei vier verschiedenen Versuchstiergruppen. Es finden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Kontroll- und Urämiegruppe, gleichgültig ob sie Digitoxin erhalten haben oder nicht .

Harnstoff-N (mg %)	Digitoxin - Letaldosis (mg/kg Körpergewicht)
62,o	4,35
64,5	8,51
12o,o	7,91
54,o	7,74
89,o	7,59
49,o	4,81
87,o	7,oo
53,o	6,44
43,5	5,57

$n = 9$

$\bar{x} = 6,65 \pm 1,46$

Tabelle 1

Harnstoff-N - Serumkonzentration und Digitoxin - Letaldosis bei u r ä m i s c h e n Tieren

Harnstoff-N (mg %)	Digitoxin - Letaldosis (mg/kg Körpergewicht)
17,5	7,5o
18,o	1o,15
15,o	9,6o
14,5	8,6o
16,o	11,86
13,o	12,66
15,o	8,96
17,o	11,9o
15,5	15,2o

n = 9

$\bar{x}$ = 1o,71 $\pm$ 2,39

Tabelle 2

Harnstoff-N - Serumkonzentration und Digitoxin - Letaldosis bei K o n t r o l l t i e r e n

Myokardaktivität (n Ci/g)	Plasmaaktivität (n Ci/ml)	% der Plasmaaktivität
2,51o	5,7oo	44,o
2,ooo	4,81o	41,6
1,655	4,19o	39,5
2,oo5	6,o3o	33,3
2,14o	6,51o	32,7
1,68o	4,54o	37,o
1,92o	5,49o	35,o
1,73o	5,13o	33,7
1,625	5,17o	31,4
1,655	5,o8o	32,6
1,87o	5,79o	32,3
1,77o	5,12o	34,6
1,83o	3,78o	48,4
1,44o	3,66o	39,3
1,49o	3,83o	38,9
1,75o	4,41o	39,7
1,42o	3,45o	41,2
1,6oo	5,o3o	31,8
2,89o	7,32o	39,5
3,1oo	7,72o	4o,2

n = 2o

$\bar{x}$ = 37,34 $\pm$ 4,63

Tabelle 3

^{45}Ca - Aktivitäten 6 Stunden nach i.p. Injektion von 1o µ Ci/kg und 1oo µg Digitoxin i.v. bei u r ä m i s c h e n Tieren

Myokardaktivität (n Ci/g)	Plasmaaktivität (n Ci/ml)	% der Plasmaaktivität
1,595	4,o3o	39,6
1,54o	4,39o	35,1
1,67o	5,7oo	29,3
2,15o	5,5oo	39,1
1,81o	5,55o	32,6
2,152	5,83o	36,5
1,71o	4,98o	34,3
1,72o	4,93o	34,9
1,63o	5,24o	31,1
1,275	4,1oo	31,1
1,36o	4,36o	31,2
2,125	5,91o	36,o
1,66o	3,3oo	5o,3
2,o6o	5,37o	38,4
1,o35	2,39o	43,3
2,73o	6,87o	39,7

n = 16

$\bar{x} = 36,41 \pm 5,35$

Tabelle 4

^{45}Ca - Aktivitäten 6 Stunden nach i.p. Injektion von 1o µ Ci/kg bei u r ä m i s c h e n Tieren

Myokardaktivität (n Ci/g)	Plasmaaktivität (n Ci/ml)	% der Plasmaaktivität
1,335	3,68o	36,3
1,o2o	3,74o	29,4
1,31o	4,o1o	32,7
1,56o	4,96o	31,5
2,13o	6,o2o	35,4
1,975	5,97o	32,1
2,75o	6,ooo	45,8
1,535	4,89o	31,4
1,5o5	4,49o	33,5
1,52o	4,66o	32,6
1,16o	3,45o	33,6
1,43o	4,46o	32,1
1,43o	3,86o	37,o
1,44o	3,94o	36,5
1,38o	2,8oo	49,3
1,295	3,29o	39,4
1,8o5	5,38o	33,6
2,175	5,92o	36,7

n = 18

$\bar{x}$ = 35,5o $\pm$ 5,o7

Tabelle 5

^{45}Ca - Aktivitäten 6 Stunden nach i.p. Injektion von 1o µ Ci/kg und 1oo µg Digitoxin i.v. bei K o n t r o l l t i e r e n

Myokardaktivität (n Ci/g)	Plasmaaktivität (n Ci/ml)	% der Plasmaaktivität
1,o65	2,83o	37,6
1,28o	3,74o	34,2
1,76o	4,65o	37,7
2,12o	6,36o	33,3
1,76o	5,24o	33,5
2,11o	5,7oo	36,9
1,795	4,88o	36,8
1,69o	5,41o	31,2
1,22o	3,62o	33,7
1,225	3,67o	33,4
1,27o	3,95o	32,2
1,165	3,56o	32,7
1,46o	3,55o	41,1
1,37o	3,o8o	44,5

$n = 14$

$\bar{x} = 35,63 \pm 3,73$

Tabelle 6

^{45}Ca - Aktivitäten 6 Stunden nach i.p. Injektion von 1o µ Ci/kg bei K o n t r o l l t i e r e n

LITERATURVERZEICHNIS

1 Anthonisen,P. , Holst,E.
Determination of cardiac output and other hemodynamic data in uremic patients using the dye dilution technique
Scand.J.clin.Lab.Invest.
12, 481 (1960)

2 Arnold,H.
Tierexperimentelle Untersuchungen zur Pathogenese der urämischen Kardiomyopathie
Med. Diss. Würzburg (1976)

3 Bailey,G.L. , Hampers,C.L. , Merill,J.P.
Reversible cardiomyopathy in uremia
Trans.Amer.Soc.artif.intern.Org.
13, 263 (1967)

4 Belz,G.
Die herzwirksamen Glykoside
J.F. Lehmanns Verlag, München (1971)

5 Bower,J.D. , Coleman,Th.G.
Circulatory function during chronic hemodialysis
Trans.Amer.Soc.artif.intern.Org.
15, 373 (1969)

6 Brass, H.
Zur Therapie mit Herzglykosiden bei Patienten mit Niereninsuffizienz
Dtsch.med.Wschr.
48, 754 (1970)

7 Bundschu,H.D. , Reichenmiller,H.E. , Suchenwirth,R.
Das morphologische Bild der urämischen Myopathie
in: Aktuelle Probleme der Dialyseverfahren und der Niereninsuffizienz. Hrsg.: Dittrich v.,E. , Skrabal,F. , Stühlinger,W.D.
Verlag Carl Bindernagel, Friedberg (1974)

8 Carafoli,E. , Lehninger,A.L.
A survey of the interaction of calcium ions with mitochondria from different tissues and species
Biochem.J.
122, 681 (1971)

9 Chanutin,A. , Barksdale, E.E.
Experimental renal insufficiency produced by partial nephrectomy. II. Relationship of left ventricular hypertrophy, the width of the cardiac muscle fiber and hypertension in the rat
Arch.intern.Med.
52, 739 (1933)

1o Chanutin,A. , Ferris,E.B.
Experimental renal insufficiency by partial nephrectomy. I. Control diet
Arch.intern.Med.
49, 767 (1932)

11 Dobbelstein,H.
Pathogenese und Klinik von Organstörungen bei Urämie : Encephalo- und Neuropathie
Verh.dtsch.Ges.inn.Med. (1974)

12 Documenta Geigy
Wissenschaftliche Tabellen (1968)

13 Doherty,J.E. , Perkins,W.H., Wilson,M.C.
Studies with tritiated digoxin in renal failure
Am.J.Med.
37, 536 (1964)

14 Dwenger,A.
Chemie, Biochemie und klinische Pharmakologie der Digitalisglykoside
Arzneim.Forsch.
23, 1o (1973)

15 Fleckenstein,A.
Myokardstoffwechsel und Nekrose
Herzinfarkt und Schock. VI.Symp.dtsch.Ges.f.Fortschritte auf dem Gebiet der Inneren Medizin. Hrsg.: L.Heilmeyer und H.J.Holtmeier
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1969)

16 Fleckenstein,A.
Physiologie und Pharmakologie der transmembranären Natrium- , Kalium- und Calcium - Bewegungen
Arzneim.Forsch.
22, 2o19 (1972)

17 Fleckenstein,A. , Janke,J. , Döring,H.J. , Leder,O.
Die intrazelluläre Überladung mit Calcium als entscheidender Kausalfaktor bei der Entstehung nicht-coronarogener Myokardnekrosen
Verh.dtsch.Ges.Kreisl.Forsch.
37, 345 (1971)

18 Gerecke,D.
Percutane Schwanzarterienpunktion als Methode zur wiederholten Blutentnahme an der Ratte
Z.ges.exp.Med.
154, 339 (1971)

19 Heidland,A. , Hansen,U. , Hevendehl,G.
Iatrogene Störungen bei Niereninsuffizienz
in : Niereninsuffizienz, Klinik und Therapie.
Fortbildungstagung der Medizin.Universitätsklinik Würzburg
Hrsg.: A.Heidland, E.Scheitza, J.Kult
Wissenschaftliche Informationen Fresenius (1973)

2o Henning,H.V. , Quellhorst,E. , Scheler,F.
Myokardverkalkung als letale Komplikation bei chronischer
Niereninsuffizienz
Med.Klin.
64, 1591 (1969)

21 Hosking,D.J. , Chamberlain,M.J.
Calcium balance in chronic renal failure. A study using in vivo
neutron activation analysis
Quart.J.Med. , New Series XLII
167, 467 (1973)

22 Hudgins,P.M. , Weis,G.B.
Characteristics of ^{45}Ca binding in vascular smooth muscle
Amer.J.Physiol.
217, 131o (1969)

23 Inesi,G. , Ebashi,S. , Watanabe,S.
Preparation of vesicular relaxing factor from bovine heart tissue
Amer.J.Physiol.
207, 1339 (1964)

24 Jaedicke,W. , Janke,J. , Fleckenstein,A.
Potenzierung Isoproterenol-induzierter Myokardnekrosen durch Steigerung des transmembranären Ca^{++}-Influx mittels 9-Fluorcortisolacetat. - Aufhebung des Potenzierungseffektes durch K^{+}- und Mg^{++}-Salze
Pflügers Arch.
319, R 9 (1970)

25 Klaus,W.
Comment on the role of cellular calcium in digitalis action
In : Factors influencing myocardial contractility
Edit.: R.D.Tanz, F.Kavaler, J.Robert
New York : Academic Press (1967)

26 Klaus,W. , Krebs,R.
Kinetische Analyse der Calcium-Kompartimente im Meerschweinchen-herzen unter Kontrollbedingungen und Strophantineinwirkung
Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Pharmacol.
283, 277 (1974)

27 Kramer,P. , Horenkamp,J. , Willms,B. , Scheler,F.
Das Kumulationsverhalten verschiedener Herzglykoside bei Anurie
Dtsch.med.Wschr.
9, 444 (197o)

28 Kramer,P. , Scheler,F.
Renale Eliminationskinetik verschiedener Herzglykoside
Dtsch.med.Wschr.
9, 1 (197o)

29 Krebs,R
Über einige zelluläre Grundlagen der positiv inotropen Wirkung von Herzglykosiden, Katecholaminen und Methylxanthinen
Hippokrates
41, 354 (197o)

3o Langer,G.A. , Brady,A.J.
Ca- flux in the mammalian ventricular myocardium
J.gen.Physiol.
46, 7o3 (1962/63)

31 Lossnitzer,K. , Bajusz,E. , Strauch, M.
Unterschiedliches Verhalten von Magnesium, Calcium, Kalium und Natrium im Serum, Herz- und Skelettmuskel bei einer erheblichen Kardiomyopathie
Verh.dtsch.Ges.inn.Med.
78, 1o59 (1972)

32 Lowitz,H.D. , Scheler,F.
Digitalistherapie und Niereninsuffizienz
Med.Klin.
63, 1997 (1968)

33 Lüth,J.
Der Einfluß der akuten Hypercalcämie auf die intracelluläre Ionenverteilung in muskulären und parenchymatösen Organen der Ratte
Med.Diss. Würzburg (1972)

34 Marsh,W.H. , Fingerhut,B. , Miller,H.
Automated and manual direct methods for the determination of blood urea
Clin.Chem.
11, 624 (1965)

35 Matthews,C. , Ritz,E. , Hasselbach,W. , Bundschu,H.D.
Veränderungen an der quergestreiften Muskulatur bei experimenteller Urämie
Verh.dtsch.Ges.inn.Med.
79, 7o5 (1973)

36 Morrison,A.B.
Experimentally induced chronic renal insufficiency in the rat
Lab.Invest.
11, 321 (1961)

37 Nayler,W.G.
Calcium exchange in cardiac muscle : a basic mechanism of drug action
Amer.Heart.J.
73, 379 (1967)

38 Nayler,W.G.
Influence of electrolyte disturbances on electromechanical coupling
Acta cardiol.
Suppl. XVII , 76 (1973)

39 Nayler,W.G. , Mc Innes,J. , Chipperfield,D. , Carson,V. , Kurtz,J.B.
Ventricular function and the calcium-accumulating activity of the sarcoplasmic reticulum
J.molec.cell.Cardiol.
1, 3o7 (197o)

4o Nöller,H.G.
Die Blutentnahme aus dem retroorbitalen Venenplexus
Klin.Wschr.
33, 77o (1955)

41 Ogilvic,R.I. , Ruedy,J.
Adverse drug reactions during hospitalization
Can.med.Assoc.J.
97, 145o (1967)

42 Renner,E.
Mathematisch-statistische Methoden in der praktischen Anwendung
Verlag Paul Parey, Berlin/Hamburg (197o)

43 Riecker,G.
Störungen des Wasser- und Elektrolytstoffwechsels bei Nierenkrankheiten
Hdb.inn.Med. VIII 1 , 5.Ed.
Springer Verlag, Berlin (1968)

44 Ritz,E.
Experimentelle Untersuchungen zum intestinalen Calciumtransport bei Urämie
Z.ges.exp.Med.
152, 313 (197o)

45 Ritz,E. , Krempien,B. , Andressy,K.
Calciumstoffwechselstörungen bei Niereninsuffizienz
Med.Klin.
67, 1129 (1972)

46 Romen,W. , Heine,W.D.
Nierenparenchymveränderungen bei 5/6 - nephrektomierten Ratten
Virchows Arch. (path.Anat.)
356, 42 (1972)

47 Romen,W.
Pathomorphologische Zell- und Organveränderungen bei chronischer Niereninsuffizienz
in : Niereninsuffizienz, Klinik und Therapie.
Fortbildungstagung der Medizin.Universitätsklinik Würzburg
Hrsg.: A.Heidland, E.Scheitza, J.Kult
Wissenschaftliche Informationen Fresenius (1973)

48 Scheler,F. , Wigger,W. , Höffler,D. , Quellhorst,E.
Steigerung der Digitalistoxizität bei eingeschränkter Nierenfunktion
Dtsch.med.Wschr.
90, 1614 (1965)

49 Slater,E.C. , Cleland,K.W.
The effect of calcium on the respiratory and phosphorylative activities of heart muscle sarcosomes
Biochem.J.
55, 566 (1953)

5o Steiness,E.
Incidence of electrolyte disturbances on the effect of digitalis
Acta cardiol.
Suppl. XVII, 145 (1973)

51 Terman,D.S. , Alfrey,A.C. , Hammond,W.S. , Donndelinger,T. , Ogden,D.A. , Holmes,J.H.
Cardiac calcification in uremia
Amer.J.Med.
5o, 744 (1971)

52 Vaitl,F.
Digitoxin und Urämie
Med. Diss. Würzburg (1979)

53 Virchow,R.
Kalk-Metastasen
Virchows Arch. (path.Anat.)
8, 1o3 (1855)

Herrn Priv. Doz. Dr. med. H. Hennemann möchte ich für die freundliche Überlassung des Dissertationsthemas und für die Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit herzlichen Dank aussprechen.

Herrn Prof. Dr. med. H. A. Kühn darf ich danken für die Übernahme des Korreferates sowie die großzügige Bereitstellung eines Arbeitsplatzes.

Herrn Dr.med. H.G. Hevendehl danke ich für den jederzeit gerne gewährten Rat.

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80